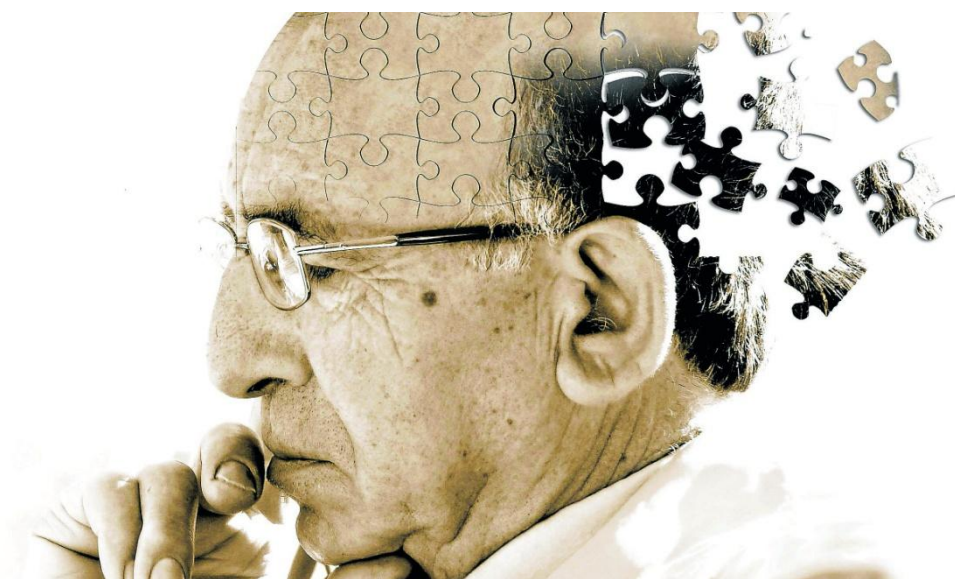


Importancia del diagnóstico precoz en la Enfermedad de Alzheimer:

Marcadores preclínicos y prodrómicos



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
EZEQUIEL VEGA PRIETO



Trabajo de Fin de Grado:

Importancia del diagnóstico precoz en la Enfermedad de Alzheimer: Marcadores preclínicos y prodrómicos

Revisión Bibliográfica

Grado en Farmacia

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla

EZEQUIEL VEGA PRIETO

Tutora: Ana María Espinosa Oliva

Sevilla a 6 de Septiembre del 2018

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	1
1.2. ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	3
1.3. SITUACIÓN ACTUAL DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	5
2. OBJETIVOS	6
3. METODOLOGÍA	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
4.1. MARCADORES PRECLÍNICOS Y PRODRÓMICOS	9
4.1.1. MARCADORES GENÉTICOS	13
4.1.1.1. Presencia del alelo $\epsilon 4$ de la ApoE	13
4.1.1.2. Mutaciones en el gen de la PPA y los genes <i>PSEN</i>	15
4.1.2. MARCADORES EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO	16
4.1.2.1. Niveles de Proteína β -amiloide	17
4.1.2.2. Niveles de tau total y fosfo-tau	18
4.1.2.3. Combinación de $A\beta 42$, tau total y fosfo-tau	20
4.1.3. MARCADORES DE NEUROIMAGEN	21
4.1.3.1. Placas β -amiloides con PET-PIB	21
4.1.3.2. Estudio metabólico mediante PET-FDG	23
4.1.3.3. PET con ^{18}F -florbetapir	25
4.1.4. MARCADORES PLASMÁTICOS	26
4.1.5. MARCADORES EN LA ORINA	26
4.1.6. NUEVOS POSIBLES MARCADORES	27
5. CONCLUSIONES	29
6. BIBLIOGRAFÍA	30

RESUMEN

En la actualidad la Enfermedad de Alzheimer es la causa más frecuente de demencia neurodegenerativa. El principal problema que nos encontramos al abarcar esta enfermedad es su detección y diagnóstico precoz. Esto posee un carácter muy importante ya que permitiría un tratamiento de la enfermedad más prematuro y podrían conseguirse mejores resultados con los tratamientos existentes. En la actualidad se aúnan esfuerzos con el objetivo de encontrar marcadores característicos de la enfermedad que permitan un diagnóstico lo más temprano posible. El objetivo sería encontrar marcadores en las fases preclínicas o prodrómicas de la enfermedad, antes de que el proceso fisiopatológico estuviese muy avanzado. Este objetivo se basa en el hecho de que el proceso fisiopatológico comienza años antes de la aparición de los primeros síntomas. En este sentido lo más aceptado es el uso de combinaciones de los marcadores más característicos de esta enfermedad, para un diagnóstico precoz lo más acertado posible. Para ello se usan marcadores de neuroimagen, del líquido cefalorraquídeo y genéticos. Todos ellos pueden ser usados en fases tanto preclínicas como prodrómicas de la enfermedad, poseyendo una mayor utilidad en una u otra dependiendo de su mayor o menor presencia en cada etapa. El gran problema para llevar a cabo el diagnóstico con estos marcadores es que estos mismos están presentes también en otros tipos de demencia con sintomatología similar en los estadios iniciales.

En los últimos años se han buscado nuevos marcadores para la enfermedad en plasma y en orina debido a la facilidad de recogida de muestras y procesamiento. Sin embargo, no se ha logrado definir un marcador con una sensibilidad y especificidad adecuadas en estos fluidos. También se ha apostado por nuevas moléculas y nuevos marcadores, como puede ser la opacidad de la lente ocular que parece estar relacionada con el proceso fisiopatológico de la enfermedad.

Palabras clave: Alzheimer, marcadores, preclínica, prodrómica.

1. INTRODUCCIÓN

El 25 de noviembre de 1901 en el hospital de enfermos mentales y epilépticos de Frankfurt fue admitida una paciente de 51 años. Se llamaba Auguste Deter y presentaba síntomas tales como: dificultades de comprensión y de memoria, afasia, desorientación, paranoias, comportamiento impredecible y problemas psicosociales. El caso acabó en manos del Dr. Alois Alzheimer debido a su experiencia en personas mayores con afecciones psiquiátricas. Tras el fallecimiento de Auguste Deter, 5 años después, Alois realizó un estudio microscópico del cerebro de la paciente. En este estudio detectó la presencia de numerosas placas seniles y ovillos neurofibrilares, estructuras neuropatológicas no conocidas hasta el momento (Cuellar et al., 2016).

Esta enfermedad, que con el tiempo acabaría recibiendo el nombre de enfermedad de Alzheimer (EA), es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por el deterioro cognitivo y conductual de inicio insidioso y curso progresivo que aparece principalmente en la vejez. Es considerada actualmente como la causa más frecuente de demencia neurodegenerativa en los países desarrollados llegando a considerarse como una autentica pandemia del siglo XXI y cuya prevalencia se incrementa con la edad. Aunque su etiología no es conocida, es considerada una enfermedad compleja causada por multitud de factores, entre los cuales se considera a la edad el principal factor de riesgo no modificable (Valls-Pedret et al., 2010).

1.1 SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La EA presenta síntomas que varían entre individuos debido a factores como la condición física y el estilo de vida de la persona. Los síntomas de la EA son la disminución progresiva de las capacidades propias del cerebro y que nos capacitan para relacionarnos con el medio. Este conjunto de capacidades se denomina funciones cognitivas y se incluyen entre otras memoria, lenguaje, orientación visual y temporal, atención y planificación. También se manifiesta en las capacidades conductuales y emocionales tales como la motivación, ánimo, percepción de la realidad y sueño. Estos síntomas se desarrollan de forma gradual y progresiva.

En un alto número de casos afectados de EA, los primeros síntomas aparecen relacionados con su capacidad para memorizar cosas nuevas. Esta capacidad cognitiva

se denomina memoria autobiográfica o episódica. La persona no posee la capacidad de recordar hechos recientes y además no se observa incremento sustancial de su capacidad para recordar aunque se le ayude con pistas o le pongamos el hecho a recordar dentro de un contexto.

A estos síntomas relacionados con la memoria se suele asociar ciertos cambios de carácter, con mayor presencia la apatía. Posteriormente se van sumando otra serie de síntomas como:

- Desorientación temporal.
- Incapacidad para copiar figuras y dibujar.
- Incapacidad para denominar objetos comunes.
- Discapacidad para discriminar bien cosas o personas.
- Delirios y alucinaciones
- Agitación.
- Finalmente, se afectan las funciones más básicas del ser humano, tales como la motora y las propias de regulación de nuestros órganos internos.

Esta evolución de los síntomas se suele ir produciendo de forma gradual en una media que va desde 5 a 15 años.

Las fases de la EA han sido identificadas desde hace décadas. Existen diversas clasificaciones, algunas hablan de 7 etapas y otras de 5 fases de la EA, pero la más extendida es la propuesta de 3 fases: alzheimer leve, alzheimer moderado y alzheimer grave.

En la fase leve el paciente conserva su autonomía aunque ya comienza a requerir supervisión para ciertas tareas básicas. Aparecen también pérdida de la memoria episódica o reciente, desorientación espacio-temporal, reducción de la fluidez verbal, cambios de humor y comportamiento.

En la fase moderada se pasa de la supervisión a la asistencia, necesitando al cuidador en algunas actividades de su día a día. Aparece la apraxia, que es la dificultad para llevar a cabo tareas aprendidas como vestirse, lavarse o comer, y también síntomas conductuales

y psicológicos. En esta fase aparece también la agnosia, es decir, no reconocen a personas u objetos conocidos (Brescané, 2014).

Por último, en la fase grave, el paciente alcanza una dependencia total del cuidador por lo que necesita ayuda para todas las necesidades básicas. En esta etapa la figura del cuidador es básica para ayudar al paciente en su día a día.

1.2. ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

El proceso degenerativo de la EA se inicia probablemente 20 ó 30 años antes del inicio de la sintomatología, pero al tratarse de una enfermedad gradual es difícil precisar el momento exacto de su comienzo. Las principales características a nivel histológico de la EA son la disminución cuantitativa de células corticales y la presencia de estructuras proteicas, como son las placas amiloideas extracelulares y los ovillos neurofibrilares intracelulares.

Las placas amiloideas son depósitos extracelulares formados por un péptido de 4 kDa, que recibe el nombre de péptido β -amiloide ($A\beta$), que se origina debido a la proteólisis de la proteína precursora de amiloide (proteína PPA). La PPA es una proteína transmembrana, que en condiciones normales se mantiene unida a la membrana o puede sufrir cortes liberándose la región extracelular. Este corte es producido por las enzimas α -secretasa y γ -secretasa. En la EA se ha observado que dicha proteína puede sufrir cortes en otras regiones por acción de las enzimas β -secretasa y γ -secretasa, originándose los péptidos $A\beta$ que pueden agregarse entre sí formando estructuras como las placas seniles (Avila, 2002). Es decir, como se observa en la figura 1, se puede hablar de dos vías de procesamiento de la citada proteína PPA, una vía amiloidogénica y otra no amiloidogénica. En la vía no amiloidogénica, la acción de la α -secretasa y la γ -secretasa, de forma secuencial, origina un fragmento denominado $PPA\alpha$ soluble ($sPPA\alpha$) el cual está relacionado con la plasticidad neuronal. Además de este fragmento, también se forman el péptido P3 y el dominio AICD (parte intracelular de la proteína), que están relacionados ambos con el metabolismo del colesterol en las neuronas. En la vía amiloidogénica la proteína PPA es procesada por la β -secretasa en lugar de la α -secretasa, generándose el péptido $A\beta$. Este péptido $A\beta$, de mayor tamaño que P3, origina como se ha comentado anteriormente aglomeraciones que reciben el nombre de placas seniles (Villegas, 2014).

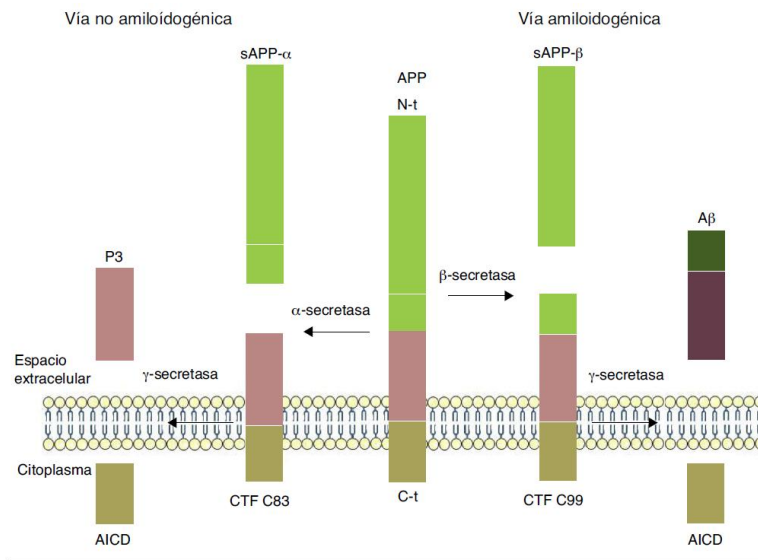


Figura 1: Posibles vías de procesamiento de la PPA. Adaptado de Villegas, 2014.

Los ovillos neurofibrilares son, como se observa en la figura 2 depósitos intracelulares formados por la agregación de una proteína asociada a los microtúbulos denominada proteína tau. La proteína tau promueve el ensamblaje y estabilización de los microtúbulos necesarios para el transporte axonal. Esta proteína puede sufrir una fosforilación anormal perdiendo afinidad por el microtúbululo, separándose y uniéndose entre sí formando los ovillos neurofibrilares, los cuales producen atrofia celular y favorecen la demencia.

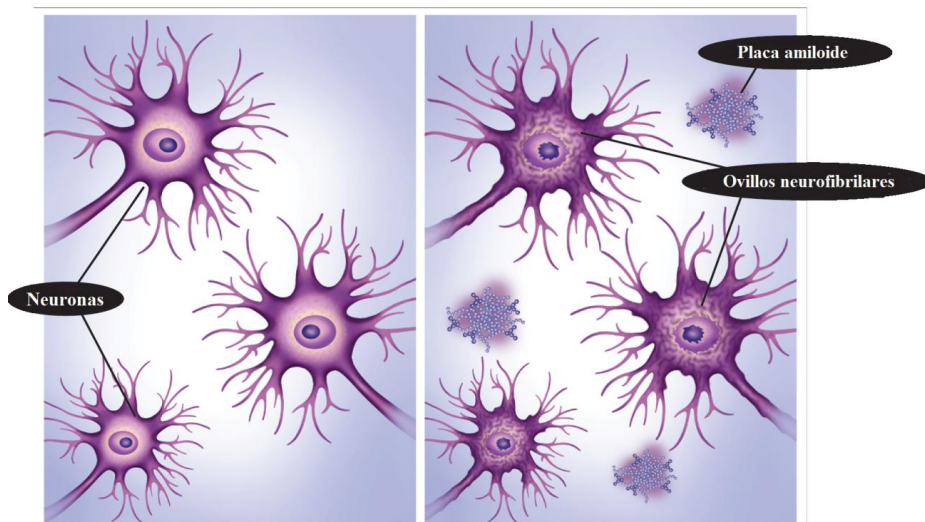


Figura 2: Localización de placas y ovillos con respecto a las neuronas. Adaptada de <https://plasmalogen.me/en/risk-factors-and-causes-of-alzheimers/>

Dependiendo de a qué edad se inicie, la EA puede clasificarse como de aparición temprana o de aparición tardía, encontrándose la separación entre ellas en torno a los 65 años. Solo entre un 1-2 % de los casos de EA son de aparición temprana y menos de la mitad de estos casos se corresponden con la forma llamada familiar ya que se hereda como un rasgo autosómico dominante. La EA no familiar de inicio temprano junto con la EA tardía se aúnan en lo que se denomina EA esporádica (Villegas, 2014).

En la EA familiar se han descubierto tres genes causantes: los que codifican la PPA en el cromosoma 21, la presenilina 1 (PSEN1) en el cromosoma 14 y la PSEN2 en el cromosoma 1. La mutación de estos genes da explicación a la mayor parte de casos de EA familiar. Aunque este tipo de EA no supone más de 1% del total de casos, su estudio ha sido muy importante para avanzar en el conocimiento de los mecanismos patogénicos de la enfermedad (Valdivieso y Bullido, 2002).

En cuanto a los factores genéticos en la EA esporádica, los estudios señalan a la existencia de polimorfismos en los genes de las apolipoproteínas (Apo) transportadoras de colesterol en el sistema nervioso central, ApoE y ApoJ (clusterina), como factores de riesgo. Así se asocian los cambios vasculares y el deterioro de la homeostasis lipídica cerebral a la fisiopatología de la EA esporádica (Lanoiselée et al., 2017).

1.3 SITUACIÓN ACTUAL DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Desde que en 1901 Auguste Deter ingresara en el hospital de Frankfurt donde ejercía Alois Alzheimer hasta hoy en día se ha avanzado muchísimo en el conocimiento de esta enfermedad. Son muchas las líneas de trabajo que se han iniciado en busca de marcadores diagnósticos, el origen de la enfermedad y de terapias que puedan vencerla o impedir su aparición.

Hasta hace unas décadas, los pacientes eran derivados a las consultas de los especialistas con la enfermedad ya en estado avanzado, presentando una afectación de carácter grave tanto en síntomas cognitivos como funcionales. Se utilizaban vasodilatadores cerebrales de dudoso efecto y neurolépticos no exentos de efectos secundarios. En 1993 se aprobó la tacrina, el primer fármaco para el tratamiento de la EA y, de forma posterior, se introdujo la memantina, con la indicación precisa de conseguir retrasar el avance de los síntomas y mejorar la calidad de vida y con menos

efectos secundarios que la tacrina. Simultáneamente se fueron desarrollando neurolépticos con nuevas moléculas que reducían de forma sustancial los efectos adversos de los fármacos más clásicos. El tratamiento no farmacológico, como las actividades destinadas a estimular las funciones cognitivas, también se fueron desarrollando e implantando de forma progresiva y en los pocos centros existentes se iniciaba a los pacientes en terapias no farmacológicas, tan necesarias como positivas (Mesa, 2011).

A pesar de ello, estos fármacos no son tan efectivos como se querría, aunque cada vez se utilizan en fases más prematuras de la enfermedad, su inicio es todavía demasiado tardío. El objetivo sería usarlos en fases asintomáticas de la enfermedad. Debido a esto la detección precoz de la EA, que se ha convertido en un objetivo principal en el campo de la investigación, ha evolucionado desde la aparición del concepto de deterioro cognitivo leve (DCL) como principal marcador diagnóstico de la enfermedad hasta los actuales criterios diagnósticos en proceso de investigación propuestos para la EA. Estos criterios permitirían realizar un diagnóstico precoz, en fase prodrómica o incluso preclínica, al estar basados en marcadores biológicos objetivos (Valls-Pedret et al., 2010).

2. OBJETIVOS

Es evidente la necesidad de poder avanzar hasta el diagnóstico precoz de la enfermedad para realizar ensayos clínicos de fármacos que modifiquen o frenen el avance de la enfermedad en las fases preclínica (fase previa a la aparición de síntomas) y prodrómica (fase sintomática pre-demencia) de esta. Por ello la búsqueda de marcadores biológicos potenciales para el diagnóstico precoz constituye una de las estrategias actuales en la lucha contra la EA. El objetivo del siguiente trabajo es realizar una recopilación de información actual sobre dichos marcadores con el fin de:

- Poner de manifiesto la necesidad que existe de un diagnóstico precoz en la EA ya que, cuando ésta es diagnosticada, es demasiado tarde para llevar a cabo un tratamiento eficaz. Además de la importancia del diagnóstico precoz para mejorar los tratamientos y el pronóstico de la enfermedad.

- Describir detalladamente los diferentes marcadores que se conocen, resaltando sus ventajas y desventajas.
- Destacar, dentro de los diferentes marcadores de la enfermedad existentes, los que poseen un mayor interés en cuanto a su especificidad y sensibilidad para dicha enfermedad.
- Hacer una revisión sobre la aplicación de estos marcadores en los últimos años o, por el contrario, resaltar su potencial uso en un futuro.

3. METODOLOGÍA

El desarrollo de esta revisión de carácter bibliográfico se ha llevado a cabo gracias al uso de fuentes de información como libros, artículos científicos, bases de datos, tesis doctorales, informes científicos y revistas científicas. De cada una de ellas se ha estudiado la información contenida, usando la que más valor tenía para esta revisión.

En un primer lugar se ha llevado a cabo una introducción a modo de explicación de los elementos y características más destacadas de esta enfermedad, ofreciendo una visión global de la misma. Para ello se ha realizado una búsqueda de diversos artículos en la base de datos *PubMed*. Además de esta base de datos ha sido muy importante la información aportada en la plataforma Know Alzheimer.

Tras esta primera parte se trata de llenar los diferentes marcadores conocidos para la EA y el valor y utilidad de cada uno de ellos en la actualidad. Al igual que en la parte anterior, se utilizaron para su desarrollo numerosos artículos extraídos de distintas bases de datos, entre las que destaca *PubMed*.

Para llevar a cabo esta búsqueda de información se han usado palabras claves en inglés. Algunas de las palabras claves usadas son: “marker”, “preclinical”, “prodromic”, “Alzheimer’s disease”, “cerebrospinal fluid”, “neuroimaging”, entre otras. Estas palabras han sido utilizadas combinando diferentes criterios de selección, pero principalmente realizando la búsqueda de ellas en los títulos de los artículos. Otro criterio de selección utilizado ha sido la actualidad de los artículos de interés encontrados.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El uso de los primeros tratamientos con efectos para la EA, los inhibidores de la acetilcolinesterasa, supuso un gran impulso para la investigación de marcadores diagnósticos para la enfermedad. Esto fue debido a la intención de usar los nuevos tratamientos en las etapas más iniciales de la enfermedad. Estos compuestos son más efectivos en las primeras fases de la EA, antes de que los cambios y alteraciones sean demasiado intensos.

Después de la fase preclínica, el primer síntoma normalmente es una alteración de la memoria episódica. Este comienzo de la fase clínica de la enfermedad sin demencia se conoce como la fase de DCL de la EA. En los últimos años se han aunado esfuerzos para identificar signos clínicos, neuropatológicos, bioquímicos y genéticos que permitieran establecer un diagnóstico en fase de DCL o incluso en una fase preclínica de la EA (Martin-Carrasco, 2009).

Atendiendo a las funciones cognitivas que se encuentren alteradas, se puede diferenciar entre un DCL amnésico, cuando únicamente hay déficit de memoria, y un DCL no amnésico, cuando se afecta una función cognitiva distinta de la memoria (lenguaje, atención, cálculo, resolución de problemas, etc.). Pero también se puede identificar un DCL multidominio, en el que son varias las funciones deficitarias, y que, según algunos estudios, sería el tipo de DCL más frecuente. Si consideramos que el DCL constituye un paso intermedio en la evolución del deterioro desde el envejecimiento normal hasta la demencia, se ha especulado acerca de que el DCL amnésico evolucionaría hacia la EA mientras que el DCL no amnésico evolucionaría hacia otros tipos de demencia.

Los criterios para definir el DCL que la mayor parte de los autores utilizan son los de Petersen (Petersen et al., 2009):

- Presencia de pérdidas de memoria, referidas por el paciente o por un informador fiable.
- Deterioro objetivo de memoria medido por test: 1,5 desviaciones típicas (DT) por debajo de la media de la edad.
- Función cognitiva general normal.

- Actividades de la vida diaria sencillas intactas, aunque pueda tener ligeras alteraciones en las complejas.
- Ausencia de demencia.

Hasta ahora todos estos criterios diagnósticos que se han nombrado requieren la presencia de deterioro cognitivo para poder realizar un diagnóstico de forma clara, lo que conlleva que todas las alteraciones anatomopatológicas ya estarían presentes en el cerebro. Dicho diagnóstico se realizaría en una etapa eminentemente clínica, con lesiones ya irreparables y con poca proyección a una posible mejora de los síntomas. Por este motivo, sería necesario detectar marcadores que, de una forma objetiva, permitan diagnosticar la enfermedad antes de que se presente (Mesa, 2011).

4.1. MARCADORES PRECLÍNICOS Y PRODRÓMICOS

La etapa de EA preclínica se basa en que el desarrollo patológico de la enfermedad comienza años antes de la aparición de los efectos clínicos de la enfermedad. Esta etapa de la enfermedad es la menos estudiada hasta el momento, sin embargo es en esta etapa donde tienen lugar las primeras modificaciones y alteraciones moleculares originándose de esta forma el proceso neurodegenerativo que con el tiempo dará paso a la etapa clínica de la EA (Price et al., 1999).

Este periodo de la enfermedad es asintomático debido a que las alteraciones que han tenido lugar no son aún suficientes para producir manifestaciones clínicas. En esta etapa de la EA es cuando tenemos la oportunidad de tratar los inicios de la enfermedad pudiendo modificar su evolución, frenándola o quizás en un futuro, parándola, antes de que las alteraciones sean más numerosas y el daño cerebral más acusado e irreversible (Valls-Pedret et al., 2010).

La fase prodrómica se define como la fase sintomática predemencia de la EA, caracterizada por la presencia de síntomas que no son lo suficientemente marcados como para poder ser usados como criterio diagnóstico actuales de EA. En esta fase los criterios diagnósticos se basan, como se observa en la tabla 1, en la presencia de alteración de la memoria episódica, es decir, en uno de los primeros síntomas de la EA. Este diagnóstico se produciría cuando ya el daño fisiológico que se produce en la EA es avanzado, disminuyendo la efectividad de los posibles tratamientos.

Criterio diagnóstico central

A. Presencia de alteración de memoria episódica significativa que incluya las siguientes características:

- Cambio gradual y progresivo de la función mnésica referido por los pacientes o informadores de al menos seis meses de evolución
 - Evidencia objetiva de la alteración significativa de la memoria episódica medida mediante tests que evalúen principalmente el déficit de evocación que no mejore con pistas o en las pruebas de reconocimiento, controlando previamente que la fijación haya sido normal
 - La alteración de memoria episódica puede ser aislada o asociada a otros cambios cognitivos cuando la EA es inicial o conforme ésta avanza
-

Rasgos que apoyan el diagnóstico

B. Presencia de atrofia del lóbulo temporal medial

- Pérdida de volumen hipocampal, córtex entorrinal y amígdala, evidenciada por cambios cualitativos visuales observados en la resonancia magnética (teniendo en cuenta las características de la población de la misma edad) o bien cambios cuantitativos evaluados mediante estudios de volumetría en las regiones de interés (teniendo en cuenta las normas de la población de la misma edad)
-

C. Biomarcador anormal en líquido cefalorraquídeo

- Concentraciones bajas de β -amiloide, concentraciones incrementadas de tau o concentraciones incrementadas de fosfo-tau, o bien una combinación de estas tres
 - Otros biomarcadores futuros si están bien validados
-

D. Patrón específico funcional cerebral mediante tomografía por emisión de positrones

- Reducción del metabolismo en áreas temporoparietales bilaterales
 - Otros ligandos bien validados, incluyendo aquéllos que emergerán en un futuro inmediato, como el componente B de Pittsburgh o el FDDNP
-

E. Mutación autosómica dominante probada con un familiar de primer grado afecto.

Tabla 1: Criterios diagnósticos en fase prodrómica de la EA. Adaptada de Valls-Pedret et al., 2010.

Clínicamente, el diagnóstico de demencia tipo EA se realiza evaluando las habilidades cognitivas, de lenguaje y habilidades funcionales del posible caso. Este diagnóstico se realiza mediante la clasificación Internacional de Enfermedades, décima revisión (ICD-10), Manual de Diagnóstico y Estadísticas de Desórdenes Mentales de la Sociedad Americana de Psiquiatría 4º edición (DSM-IV-TR) y los criterios del Instituto Nacional de Desórdenes Neurológicos, Enfermedad de Alzheimer y Desórdenes Relacionados (NINCDS / ADRDA). Sin embargo, el diagnóstico definitivo de la EA se realiza solo mediante examen neuropatológico, en autopsia o raramente con biopsia cerebral. Esto refleja la necesidad de mejorar y avanzar en la búsqueda de marcadores que nos permitan un diagnóstico lo más precoz posible (Degenhardt et al., 2016).

Como se puede observar en la figura 3, los marcadores actuales más importantes para la EA son usados sobre todo en una fase prodrómica de la enfermedad. Aunque esto no indica que sean marcadores exclusivamente prodrómicos, ya que también pueden ser aplicados en la fase preclínica. Esto es debido a que ya en esta fase, aunque en una menor medida, están presentes la mayoría de alteraciones fisiopatológicas. Este predominio de uso en la fase prodrómica se puede decir que es “forzoso” ya que como se ha mencionado antes, hoy día aún se realiza diagnóstico basado en la aparición de los primeros signos de deterioro cognitivo, es decir, en una fase prodrómica de la enfermedad.

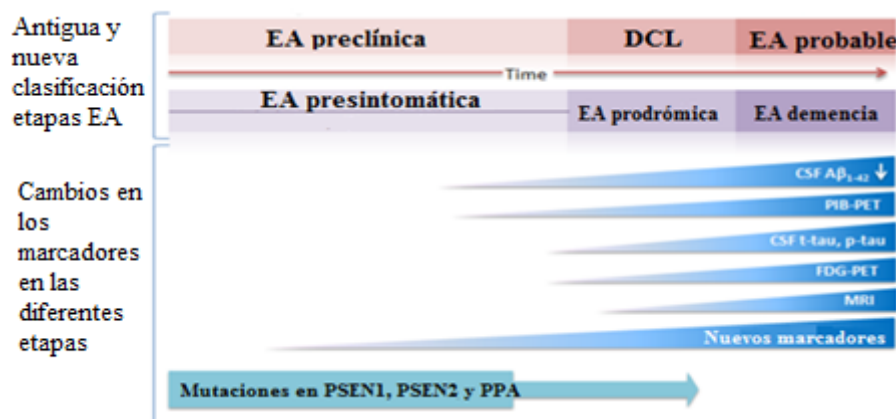


Figura 3: Utilidad de los biomarcadores más comunes de la EA en las etapas preclínica y prodrómica. Adaptada de Babic et al., 2014.

Una combinación de marcadores de EA se presenta actualmente como la más prometedora opción para un diagnóstico de EA preclínico o la predicción de progresión desde el DCL a la EA. Lo más recomendado es una combinación de tres tipos de pruebas: neuroimagen, para detectar evidencia temprana de neurodegeneración en áreas cerebrales susceptibles a la patología de EA; marcadores de riesgo genético que predicen el inicio de la EA; y evidencia de anomalías en biomarcadores de EA (por ejemplo, Aβ₄₂, tau y fosfo-tau en líquido cefalorraquídeo(LCR)). El algoritmo de diagnóstico de EA preclínica que ha sido propuesto basado en este enfoque combinatorio de neuroimágenes, pruebas genéticas y pruebas de biomarcadores de LCR podemos observarlo a continuación en la tabla 2 (Khan, 2018).

Enfoque	Marcadores en EA Preclínica	Diagnóstico
Factores de riesgo pre-sintomáticos de EA familiar.	Genes de EA familiar: PPA, PSEN1, PSEN2	EA preclínica
Combinación de factores de riesgo de EA esporádica: gen ApoE4, marcadores LCR y marcadores de neuroimagen.	ApoE4: <u>Sí</u> . LCR: bajo A β 42, alto tau y fosfo-tau Neuroimagen: alto A β en PET, bajo FDG-PET.	Elevada probabilidad de EA preclínica.
Combinación de factores de riesgo de EA esporádica: gen ApoE4, marcadores LCR y marcadores de neuroimagen.	ApoE4: <u>No</u> . LCR: bajo A β 42, alto tau y fosfo-tau Neuroimagen: alto A β en PET, bajo FDG-PET.	Probable EA preclínica.
Combinación de factores de riesgo de EA esporádica: gen ApoE4, marcadores LCR y marcadores de neuroimagen.	ApoE4: <u>No</u> . LCR: bajo A β 42, alto tau y fosfo-tau Neuroimagen: alto A β en PET, <u>no alteraciones en FDG-PET</u> .	Sospecha de EA preclínica.
Combinación de factores de riesgo de EA esporádica: gen ApoE4, marcadores LCR y marcadores de neuroimagen.	ApoE4: <u>No</u> . LCR: <u>no Aβ42</u> , alto tau y fosfo-tau Neuroimagen: <u>bajo o no Aβ en PET</u> , bajo FDG-PET.	Sospecha de fase preclínica no EA.

Tabla 2: Algoritmo para el diagnóstico de EA preclínica que ha sido propuesto basado en un enfoque combinatorio. Adaptada de Khan, 2018.

El seguimiento longitudinal en una serie de individuos con riesgo de EA de los diferentes factores de riesgo que componen este posible algoritmo permitirá estimar la precisión, sensibilidad y especificidad de cada marcador en particular para la EA. La aplicabilidad de este algoritmo para la detección de casos preclínicos necesita aún una extensa validación. A pesar de los desafíos que aún siguen presentes, el uso de biomarcadores es muy prometedor para la detección de la EA de forma precoz, es decir, en los estadios más iniciales de la enfermedad cuando aún las alteraciones fisiológicas están en su inicio. La importancia de este diagnóstico precoz reside en el inicio terapéutico en etapas más tempranas para desacelerar, lo máximo posible, la progresión de la enfermedad o incluso llegar a frenarla en un futuro.

4.1.1. MARCADORES GENÉTICOS

Con los avances en el estudio de la fisiopatología de la EA se han ido revelando proteínas y mutaciones en genes que están directamente asociados con la fisiopatología de la EA. Estos genes han sido valorados como posibles marcadores de EA preclínica ya que pueden ser detectados antes del comienzo de los primeros síntomas de la enfermedad. Estas mutaciones incrementan el riesgo de presentar EA, como es el caso del alelo $\epsilon 4$ de la ApoE o, por el contrario, son mutaciones que promueven el desarrollo de EA tipo familiar, como es el caso de PSEN1, PSEN2 y PPA.

4.1.1.1. Presencia del alelo $\epsilon 4$ de la ApoE

La ApoE es una proteína de aproximadamente 34 kDa y formada por 299 aminoácidos, que se encarga del transporte de colesterol y otros lípidos tanto en el plasma como en el sistema nervioso central. Esta acción la realiza uniéndose a receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDLR). Además se cree que la ApoE juega un papel fundamental en la redistribución del colesterol y los lípidos durante la reparación de las membranas, y en el mantenimiento de la plasticidad en las uniones sinápticas, sobre todo tras una lesión neuronal (Bales et al., 1999).

ApoE regula la homeostasis de los lípidos interviniendo en el transporte de lípidos de un tejido a otro. En los tejidos periféricos, la ApoE es producida principalmente en el hígado, mientras que en el sistema nervioso los principales productores de ApoE son los astrocitos y la microglía.

En el ser humano esta Apo está codificada por un gen que codifica para tres alelos polimórficos diferentes: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$; siendo el más habitual el alelo $\epsilon 3$ y el menos habitual el $\epsilon 2$. El alelo $\epsilon 4$ está presente en aproximadamente un 15% de la población normal, pero un dato muy interesante es que aparece en un 50% de los pacientes de EA. De esto se concluye que la presencia en individuos del alelo $\epsilon 4$ determina un aumento de 3 o 4 veces las probabilidades de padecer EA que los que no lo poseen (Simón et al., 2010). De hecho, este alelo está vinculado con la formación de placas de A β , la hiperfosforilación de la proteína tau, la inflamación, la neuroplasticidad y una serie de procesos que aparecen en el desarrollo fisiopatológico de la EA (figura 4).

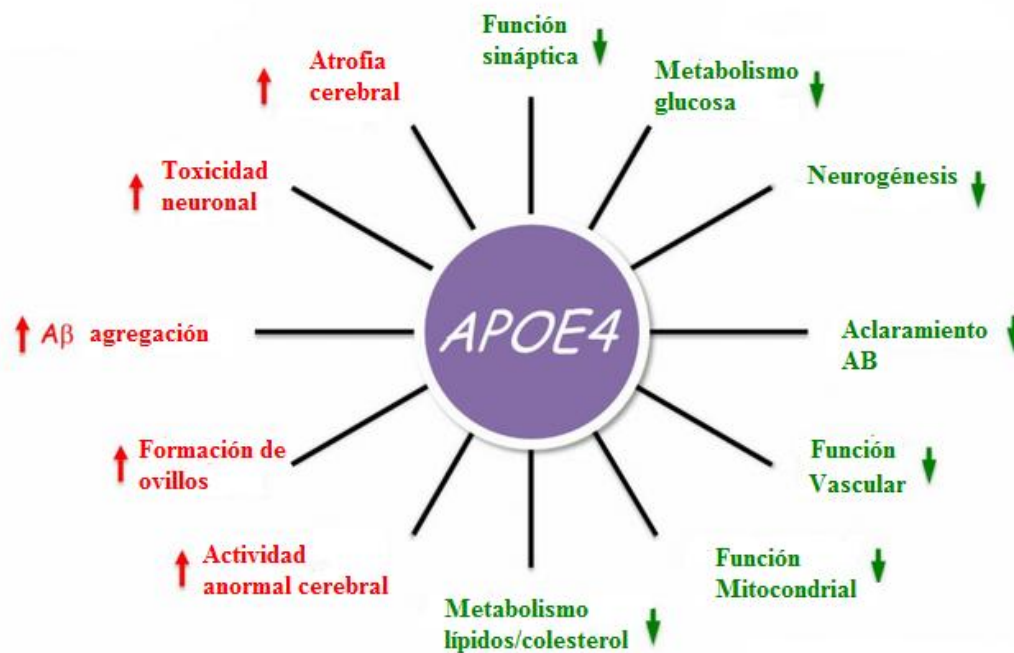


Figura 4: Ilustración de los principales procesos fisiopatológicos que aparecen en la EA. Adaptada de Liu et al., 2013.

Entre las tres isoformas de la ApoE, la diferencia radica en los aminoácidos 112 y 158, donde están presente la cisteína o la arginina: ApoE2 (Cys112, Cys158), ApoE3 (Cys112, Arg158) y ApoE4 (Arg112, Arg158). Esta diferencia de aminoácidos modifica la estructura, alterando la capacidad para unirse a lípidos, receptores y a A β . Se han realizado estudios que demuestran que las isoformas de ApoE son diferenciales en cuanto a la agregación y eliminación de péptidos A β (Liu et al., 2013).

Como ya se ha mencionado, tras múltiples estudios realizados en las últimas décadas, se ha demostrado que la variante $\epsilon 4$ de la ApoE se asocia con un mayor riesgo para ambas formas de la EA, tanto para la familiar como para la esporádica. Las evidencias inmunohistológicas demuestran que ApoE se codeposita en placas seniles en los cerebros de pacientes con EA. El depósito de A β es más abundante en personas con el alelo $\epsilon 4$ de ApoE, lo que es más marcado en personas entre los 50 y 59 años en los cuales el 40.7 % de los portadores de $\epsilon 4$ poseen placas seniles frente a un 8.2% en los que no son portadores. Esta diferencia sugiere que ApoE $\epsilon 4$ probablemente aumente el riesgo de EA al iniciar y acelerar la acumulación de A β y su posterior agregación y depósito en el cerebro (Liu et al., 2014). Los estudios *in vitro* también indican que A β y ApoE $\epsilon 4$ promueven la muerte celular e influyen en la progresión de la EA (Bales et al.,

1999). Sin embargo, se reconoce también que la variante $\epsilon 4$ de la ApoE no es indispensable ni suficiente para originar la enfermedad.

También, en adultos mayores cognitivamente normales, tanto un nivel anormal de A β como portar el alelo $\epsilon 4$ de la ApoE se han identificado como factores de riesgo en la disminución del desarrollo cognitivo y el desarrollo de la EA. En el modelo de la cascada amiloide se postula que la acumulación de A β da lugar a neurodegeneración, pérdida de función neurotransmisora y finalmente deterioro cognitivo y demencia, mientras que ApoE $\epsilon 4$ influye en la muerte celular promocionando los efectos tóxicos de A β . Además la ApoE $\epsilon 4$ contribuye directamente a la EA ya que reduce la plasticidad sináptica y aumenta el riesgo de eventos cerebrovasculares (Thai et al., 2015). El objetivo del estudio realizado por Christine Thai y colaboradores fue caracterizar la influencia de ApoE $\epsilon 4$ y A β en el deterioro cognitivo relacionando el deterioro cognitivo apreciado durante un intervalo de prueba de 18 meses en una cohorte de estudio de adultos mayores con estado cognitivo normal cuyo perfil $\epsilon 4/A\beta$ era conocido. El resultado fue que en adultos mayores con estado cognitivo normal, el deterioro durante 18 meses fue mayor en los que eran A β + y portadores de $\epsilon 4$ que en los que no eran portadores (Thai et al., 2015).

Así, ApoE $\epsilon 4$ puede ser utilizado como marcador en fases preclínicas de la enfermedad ya que es un factor genético y ya estaría presente. Sin embargo, aún siendo un claro factor de riesgo para la EA, la presencia del alelo $\epsilon 4$ de la ApoE no podría ser un marcador de esta por sí mismo ya que, como se ha comentado anteriormente, no es determinante en el desarrollo de la enfermedad. Debido a esto su uso está enfocado como marcador en fases tanto preclínicas como prodrómicas junto a otros marcadores.

4.1.1.2. Mutaciones en el gen de la PPA y en los genes *PSEN*

Estudios genéticos en familias con un fuerte componente hereditario en el desarrollo de EA han llevado a la identificación de los genes relacionados con la EA familiar o monogénica. La EA familiar se transmite siguiendo un patrón dominante autosómico y, por lo general, son de inicio temprano, en torno a los 60 años o antes. Se han identificado los genes que codifican la PPA en el cromosoma 21, y los que codifican a la *PSEN1* que se encuentran en el cromosoma 14, y a la *PSEN2*, que se localiza en el cromosoma 1.

Los genes *PSEN1* y *PSEN2* codifican el componente principal de la γ -secretasa, que es responsable de las segmentaciones proteolíticas secuenciales de las PPA y la posterior formación de péptidos A β , procesos estos relacionados con la EA. Por tanto mutaciones en ambos tipos de genes son factores de riesgo de la EA (Delabio et al., 2014).

Estas alteraciones genéticas proporcionarían una mayor actividad tanto de la γ -secretasa, en el caso de que se produjeran en los cromosomas 14 y 1, como en γ -secretasa y β -secretasa simultáneamente, en caso de que se produjera en el cromosoma 21. Esto daría como resultado una superproducción de fragmentos de A β , que se agregarían y depositarían originando las placas características de EA (Klein, 2004).

Estos genes, por tanto, se han postulado como portadores de mutaciones que son responsables de la transmisión de la enfermedad en el caso de EA familiar y además explican la mayor parte de casos de EA familiar. Tanto las mutaciones en los genes *PSEN2* como en *APP* son muy poco frecuentes, pero las mutaciones que aparecen en el gen de *PSEN1* dan respuesta a la mayoría de casos de EA familiar de inicio precoz. Estas formas de EA representan, tan solo, en torno al 1% del global de casos de EA, por lo que tienen poco valor para el diagnóstico de EA esporádica, pero aun así su descubrimiento e identificación ha sido de gran ayuda para comprender mejor el desarrollo de la enfermedad (Valdivieso et al., 2002).

Estos genes sin duda son factores de riesgo para la EA, pero solo en la modalidad familiar de esta, por lo que no se podrían usar como marcadores de la EA esporádica. Se podrían usar como marcadores tanto preclínicos como prodrómicos en caso de EA familiar.

4.1.2. MARCADORES EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

El LCR se localiza en el espacio extracelular cerebral, por lo que es de suponer que las alteraciones fisiopatológicas que tienen lugar en la EA se reflejen en éste. La introducción de nuevas técnicas menos invasivas para la obtención del LCR han desplazado a la clásica punción lumbar, que ha quedado relegada a ámbitos orientados a la investigación. A lo largo de las últimas décadas son muchos los marcadores que se han buscado en el LCR y el número de moléculas propuestas ha sido muy elevado, por lo que nos centraremos en los mejor establecidos (Martin-Carrasco, 2009).

La sensibilidad diagnóstica de estas pruebas es bastante elevada, sin embargo nos encontramos con el problema de la especificidad ya que el conjunto de cambios de estos marcadores no son exclusivos para la EA, pudiéndose encontrar en otras demencias, lo que disminuye su valor diagnóstico diferencial.

4.1.2.1. Niveles de Proteína β -amiloide

El biomarcador básico del LCR para la EA es $A\beta_{42}$, que se encuentra en bajas concentraciones en EA, probablemente reflejando el depósito que se origina en el cerebro de $A\beta$. Este marcador ha demostrado alta precisión diagnóstica para la EA. Sin embargo, la baja especificidad con respecto a la distinción entre EA y otros tipos de demencias degenerativas sigue siendo un problema. Recientemente, con el fin de mejorar la exactitud del diagnóstico de EA, se han estudiado otros biomarcadores del LCR relacionados con el metabolismo de $A\beta$. El $A\beta$ es producido por la escisión proteolítica secuencial de la PPA, que es llevada a cabo por las β -secretasas y las γ -secretasas, lo que resulta en al menos cinco isoformas de $A\beta$. La isoforma más abundante en el LCR es $A\beta_{40}$, que es menos propensa a la agregación y, por lo tanto, al menos teóricamente, una medida más directa del total de $A\beta$ en el cerebro. Por tanto es asumible que la concentración de $A\beta_{42}$, que es la isoforma de $A\beta$ con una mayor tendencia a la agregación, dependa no solo del estado fisiológico del cerebro sino también de la cantidad total de péptidos $A\beta$ en el LCR, reflejando la eficiencia del procesamiento de PPA (Baldeiras et al., 2018).

En los últimos años se ha observado una correlación inversa entre la concentración de placas de $A\beta$ determinada por neuroimagen y la concentración de $A\beta_{42}$ en el LCR. La detección de una disminución en los niveles de péptido $A\beta$ en el LCR indica, en la mayoría de los casos, que existe una alteración en el metabolismo de $A\beta$, que al no eliminarse correctamente se deposita formando las placas seniles. Un aspecto muy importante es que estos niveles tienen una oscilación circadiana, por lo cual se debe de tener en cuenta a la hora de realizar la punción lumbar (González et al., 2018).

La prueba de laboratorio más común es realizar un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) que, en el caso que nos ocupa, se reconocerían los aminoácidos que ocupan los extremos del péptido $A\beta_{42}$. Sin embargo, esta prueba queda limitada por la

inestabilidad que presenta A β 42 y su vida media corta en el LCR (García-Ribas, et al., 2014).

El uso de la relación A β 42 / 40 se piensa que refleja con más precisión los cambios en el metabolismo de A β en la EA que usando solo A β 42. De hecho, los resultados de varios grupos de estudio demostraron que utilizando la relación A β 42 / 40 mejoró la diferenciación entre demencia y controles y también entre EA y demencia no EA. Esto se debe a que los niveles de A β 40 son similares entre los grupos controles y los enfermos de EA, pero sin embargo son mayores en enfermos con DCL que en enfermos de EA (Lehmann et al., 2018).

4.1.2.2. Niveles de tau total y fosfo-tau

Debido al rol ejercido por la proteína tau en la formación de los ovillos neurofibrilares, es lógico que se haya indagado en la determinación de sus niveles en el LCR para su uso como marcador de la EA. Existen estudios en los que se ha demostrado un aumento en los valores de tau en EA, que en algunos casos, duplican o triplican los valores en comparación con controles sanos (Blennow, 2004).

Las pruebas basadas en esta proteína alcanzaban unos niveles de especificidad altos, al igual que unos valores considerables de sensibilidad en pacientes con demencia. Sin embargo, ya que tau también aparece aumentada en otros tipos de demencia su valor diferencial es escaso.

Al comparar la concentración de tau en LCR de pacientes con EA con la de otras enfermedades neurodegenerativas, como en demencia frontotemporal o demencia vascular, la especificidad se reduce a aproximadamente 50-60%, lo que hace que tau sea de uso limitado como marcador de diagnóstico para distinguir EA de otras enfermedades demenciales. De hecho, tau parece ser un marcador general de daño a los axones corticales, una observación corroborada por los resultados de estudios de accidentes cerebrovasculares, trauma cerebral y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Dado que la proteína tau puede estar fosforilada a distintos niveles, se han realizado diferentes investigaciones para determinar el valor de las especies fosforiladas de tau como marcadores. Estos estudios arrojaron datos que indicaban que estas formas fosforiladas eran más específicas para la EA. Así mediante el uso de anticuerpos que reconocen

motivos fosforilados específicos en la secuencia de aminoácidos de fosfo-tau, se encontraron algunas isoformas de fosfo-tau (principalmente fosfo-tau181, -199 y -231) que parecían ser más característicos de la EA. Fosfo-tau231 y fosfo-tau181 se pueden usar para distinguir EA de grupos de control e incluso de demencia frontotemporal, demencia con cuerpos de Lewy y demencia vascular (Hampel et al., 2010).

Como se muestra en la Tabla 3, se han usado cuatro métodos diferentes de ELISA para la cuantificación de tau. Todos han mostrado un moderado aumento de tau en el LCR en EA y se ha reflejado en numerosas publicaciones. En la primera publicación sobre los niveles de proteína tau en el LCR como biomarcador para la EA se usó un método ELISA con un anticuerpo policlonal y se encontró un aumento muy marcado de tau en LCR en EA. Los estudios posteriores utilizaron métodos de ELISA basados en anticuerpos monoclonales que detectaban todas las isoformas de tau independientemente del estado de fosforilación, y los aumentos encontrados de tau en LCR eran superiores en aproximadamente 300% y 200% (Blennow, 2004).

Marcadores en LCR de la EA		
Tipo de método	Especificidad	Anticuerpos
Total tau	Total tau	AT120 + PAb
ELISA	Total tau	AT120 + HT7/BT2
ELISA	Total tau	16B5 + 16G7
ELISA	Total tau	PAb-lt2 + MAbs F-F11/F-H5
Microsphere ELISA		
Phospho-tau	P-Thr181 +	
ELISA	P-Thr231	AT180/AT270 + HT7/AT120
	P-Thr231 +	
ELISA	P-Ser235	MAB anti-tau + anti-PT231PS23
	P-Ser199	
ELISA	P-Thr231	MAB anti-tau + anti-PS199
ELISA	P-Thr181	Tau1/CP27 + CP9
ELISA	P-Ser396 +	HT7 + AT270
ELISA	P-Ser404	PAb92e + PHF-1

Tabla 3: Diferentes tipos de ELISA y los anticuerpos usados en cada uno de ellos. Adaptada de Blennow, 2004.

Por tanto, se puede decir que hay evidencias de que la determinación de tau total y de fosfo-tau puede constituir biomarcadores de diagnóstico de EA tanto preclínica como prodrómica, aunque sería mucho más evidente en esta última etapa. Aunque aún está en investigación su papel como marcador diferencial entre EA y otras demencias, ya que estos niveles aumentados aparecen en diferentes demencias de tipo no EA. Debido a esto no se puede utilizar como biomarcador por sí mismo debe, ser usado en conjunto con otros marcadores mediante la creación de perfiles de marcadores para la EA.

4.1.2.3. Combinación de A β 42, tau total y fosfo-tau

En algunas investigaciones se ha trabajado sobre la combinación de marcadores del LCR, como A β 42, tau total y fosfo-tau (tabla 4), para intentar desarrollar un diagnóstico preclínico y mejorar la capacidad diferencial de estos marcadores por separado. En estas investigaciones se reflejaba un aumento de sensibilidad en la combinación de estos marcadores con respecto a la diferenciación de casos de EA con controles sanos. Sin embargo, no acababa de funcionar en la diferenciación de EA con respecto a otras demencias.

El conjunto de la disminución de A β 42 y los aumentos tanto de tau como de fosfo-tau en el LCR, se conoce como la firma biológica de la EA. La combinación de estos marcadores nos conceden una mayor calidad en el diagnóstico que si fueran usados por separado (García-Ribas et al., 2014).

Un estudio reciente que exponía los niveles de A β 42, tau total y fosfo-tau, que se apreciaban tanto en EA como en pacientes con demencia frontotemporal de inicio temprano, reflejó que la unión de A β 42 y fosfo-tau 181 distinguía entre las dos formas de demencia con una sensibilidad del 72% y un 93 % en especificidad. Este estudio junto a otros de la misma línea nos indican que esta combinación es una buena línea de investigación en su uso como marcadores (Blennow, 2004).

	a β ₄₂	Tau total	Tau fosforilada
Demencia por enfermedad de Alzheimer	↓↓ - ↓↓↓	↑ - ↑↑	↑
Deterioro cognitivo leve por enfermedad de Alzheimer	↓ - ↓↓	↔ - ↑	↔ - ↑
Enfermedad de Alzheimer preclínica (ancianos)	↓	↔ - ↑	↔
Enfermedad de Alzheimer preclínica (jóvenes mutaciones)	↑ - ↑↑	↔	↔
Demencia por cuerpos de Lewy	↓↓	↔ - ↑	↔
Demencia asociada a la enfermedad de Parkinson	↔ - ↓	↔ - ↑	↔
Enfermedad de Parkinson	↔	↔	↔
Parálisis supranuclear progresiva	↔	↔	↔
Hidrocefalia a presión normal	↔	↑	↑
Demencias frontotemporales no Alzheimer	↔	↓ - ↔ - ↑	↔
Demencia vascular subcortical	↔ - ↓	↔	↔

Tabla 4: Variaciones de los niveles de A β 42, tau total y fosfo-tau según la patología que se presenta. Adaptada de García-Ribas et al., 2014.

4.1.3. MARCADORES DE NEUROIMAGEN

Los primeros marcadores de este tipo que se usaron en el diagnóstico de la EA fue la neuroimagen por resonancia magnética nuclear (RMN), la cual está basada en la apreciación y medición de la atrofia sufrida por el córtex. Esta técnica hoy en día se considera que no cumple los criterios de especificidad necesarios para considerarse un marcador exclusivo de la EA, lo que ha llevado a la investigación y desarrollo de nuevas técnicas de neuroimagen (Martin-Carrasco et al., 2009).

Hoy en día la RMN ha quedado relegada a un papel de prueba complementaria en la EA en cuanto a diagnóstico precoz se refiere, ya que cuando los daños se hacen evidentes en esta prueba, ya han aparecido los primeros síntomas. Además esta técnica no permite diferenciar el daño producido por EA del producido por otras demencias de forma eficaz, por lo que solo se podría usar en una fase prodrómica clara o incluso ya con signos claros de EA (Fernández et al., 2012).

Una de las pruebas de nuevo desarrollo es la tomografía por emisión de positrones (PET). Es una técnica de imagen que se inicia en los años 60 en EEUU y fue introducida en España en 1995 (Centro PET Complutense, Madrid). La PET es una técnica de Medicina Nuclear que obtiene imágenes de la distribución *in vivo* de diferentes moléculas. Esto se consigue mediante la administración intravenosa de un radiofármaco, que es la unión de un isótopo radioactivo con una molécula determinada, tras lo cual se realiza la adquisición de las imágenes en una cámara PET. Esta nueva técnica posee varias variantes dependiendo del compuesto usado y es capaz de estudiar diferentes parámetros según el enfoque con el que se trabaje. Las más importantes para la EA son la PET- Pittsburgh B (PIB) y la PET- fluorodesoxiglucosa (FDG).

4.1.3.1. Placas β -amiloides con PET-PIB

Tanto en las formas esporádicas como familiares de la EA está presente la aparición de placas seniles que, como se ha definido anteriormente, son depósitos extracelulares insolubles de A β situados tanto en áreas corticales como subcorticales. Además de esto, por lo general, se encuentran rodeadas por neuritis distróficas. Sobre estas placas ha recaído durante mucho tiempo una función esencial en el proceso neurodegenerativo de la EA (Simón et al., 2010).

La acumulación de placas A β es uno de los procesos que inician la fisiopatología de la EA, aunque esto es aún hoy en día algo controvertido. Las formas tempranas de EA se cree que son resultado de las alteraciones que sufre la PPA en su producción o en su división. Al igual que también la existencia de una trisomía en el cromosoma 2, más concretamente en la región que codifica la PPA, da como resultado EA en la mayoría de individuos que viven más allá de los 60 años. Además de los mencionados, también están implicadas en la formación de estas placas la ApoE, la cual es el principal factor de riesgo genético de la EA de inicio temprano. Esta Apo está implicada en el transporte de A β y en la eliminación de las placas (Sperling et al., 2014).

En los últimos años se han realizado estudios de PET con un compuesto llamado PIB, el cual es un trazador que nos revela la presencia de A β (figura 4). Esta prueba diagnóstica ha demostrado su eficacia en la identificación *in vivo* de A β y de los depósitos que se forman en estadios muy iniciales de la enfermedad. De esta forma esta prueba permitiría un diagnóstico en fases muy iniciales de la enfermedad, es decir, en la etapa preclínica. No obstante, los depósitos de A β pueden ser detectados en personas de edad avanzada cognitivamente normales y además la prevalencia de los depósitos de A β asintomático puede ser similar a los depósitos de A β sintomáticos. En un grupo de participantes de un estudio, los cuales no presentaban síntomas clínicos de deterioro, los depósitos de A β no estaban asociados con una peor capacidad cognitiva. Esto sugiere que una persona de edad avanzada puede presentar una carga amiloide bastante significativa y permanecer cognitivamente normal. Estas observaciones hicieron replantear la especificidad del PET-PIB, lo que ha llevado a un seguimiento longitudinal de los sujetos para comprobar su especificidad. Este seguimiento longitudinal en el tiempo de los sujetos sometidos a estudio sería necesario para confirmar la utilidad de la PET-PIB en el diagnóstico de la EA en fase preclínica, o en su defecto para demostrar que la presencia de depósitos de A β no es suficiente para causar EA (Aizenstein et al., 2008). Esto provoca que se necesiten pruebas complementarias a la hora de realizar un diagnóstico de EA eficaz (Valls-Pedret et al., 2010).

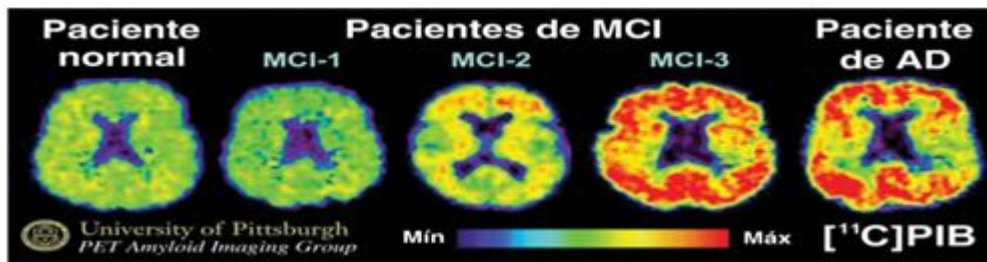


Figura 4: Evolución de las placas a medida que se avanza en la fisiopatología de la EA. Tomada de Kasper et al., 2016.

4.1.3.2. Estudio metabólico mediante PET-FDG

En este caso, la molécula utilizada es la FDG unida a un isótopo radioactivo emisor de positrones de período de semidesintegración muy corto, el ^{18}F . La FDG es un análogo de la glucosa y es captada tanto por las células cancerígenas como por las normales, pero no sigue el ciclo bioquímico normal de la glucosa, quedando atrapada en su interior. De forma fisiológica, algunos tejidos como el cerebro, el miocardio o el hígado tienen una alta demanda de glucosa, lo que se va a reflejar en una alta retención y acumulación de FDG en estos tejidos. Esta alta demanda de glucosa del cerebro es la clave para el uso de esta prueba, con un alto interés en la EA (Suárez et al., 2004).

Las reducciones del metabolismo cerebral están bien establecidas en EA y mostradas en diversas publicaciones. Además estas reducciones también están presentes en individuos cognitivamente normales con alto riesgo de EA que presentan la expresión del alelo ApoE $\epsilon 4$. Estos cambios en el metabolismo podrían ser usados, mediante PET-FDG, como marcadores predictivos para detectar una posible evolución a EA de pacientes con DCL o incluso cognitivamente sanos aún (Cohen y Klunk, 2014).

Como se ha dicho antes y como se observa en la figura 5, una de las manifestaciones de la EA es la disminución drástica de la actividad metabólica de glucosa en regiones concretas del cerebro que intervienen en esta enfermedad. El hipometabolismo de la glucosa es una señal característica de la neurodegeneración; los pacientes con EA tienen un predominio de la disminución del metabolismo en la corteza de asociación parieto-temporal, precuña, corteza del cíngulo posterior y corteza frontal, mientras que otras demencias pueden tener un patrón metabólico diferente (Kerik, 2016).

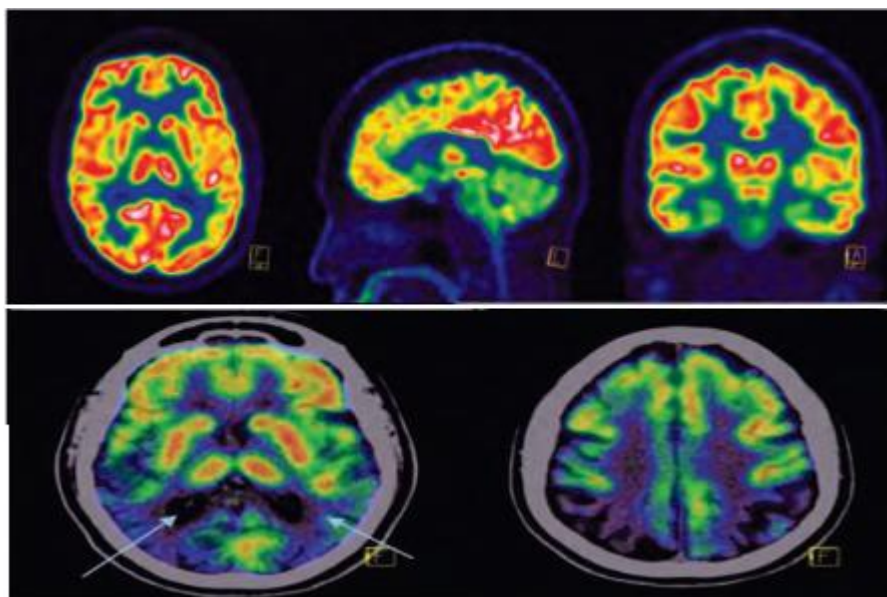


Figura 5: Estudio PET-FDG donde se observa disminución del metabolismo temporo-parietal bilateral y simétrico, cíngulo posterior y precuna, así como corteza occipital (escala de colores azules), con preservación de la corteza frontal (escala de colores verde y rojo). Tomado de Kerik, 2016

Hasta hace poco, el poder de resolución de FDG-PET era inadecuado para estudiar los cambios en el metabolismo de la glucosa en las subdivisiones del hipocampo de los pacientes con EA. Sin embargo, la alta resolución espacial de los sistemas HRRT-PET (del inglés high-resolution research tomograph) e imagen por RMN con 7.0-Tesla ha permitido segmentar y evaluar el metabolismo de la glucosa en los subcampos del hipocampo. Esto permitió realizar un estudio que identificó diferencias en el metabolismo de la glucosa entre sujetos cognitivamente normales y pacientes con EA a lo largo del eje longitudinal del cuerpo del hipocampo. En general, el hipometabolismo de la glucosa en el grupo de pacientes de EA del estudio fue más dominante en el hipocampo izquierdo que en el hipocampo derecho y más pronunciado en la región CA2 / 3 que en las otras subdivisiones del hipocampo (Choi et al., 2017).

Existen estudios de 2001 en adelante que remarcan el valor del PET-FDG en la evaluación de los pacientes con demencia. Con ayuda de la combinación del PET y otros marcadores se puede llegar a diferenciar la EA de otro tipo de demencias, como demencia fronto-temporal, demencia vascular, Huntington, Parkinson, demencia de cuerpos de Lewy, estadios metabólicos tóxicos, depresión, hidrocefalia normotensa, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (Kerik., 2016).

Esta prueba con estos avances se ha posicionado como posible marcador complementario en un diagnóstico de EA preclínico ya que por sí sola no sería determinante en el diagnóstico precoz o en su diferenciación con otras demencias.

4.1.3.3. PET con 18F-florbetapir

El florbetapir (FBP) es un radiofármaco utilizado en la obtención mediante PET de imágenes de la densidad de la placa neurítica de A β en pacientes con DCL evaluados por EA. La prueba posee una sensibilidad de en torno a un 92% en la detección de cantidades importantes de estas placas en los pacientes estudiados. Las imágenes obtenidas del A β mediante esta técnica, ofrecen una buena expectativa, ya que permiten la medición directa de estas placas.

La interpretación visual y las estimaciones cuantitativas de las placas de A β a partir de FBP-PET están correlacionadas con las observaciones y estimaciones obtenidas en estudios *post mortem*. FBP puede ser usado para distinguir individuos con placas A β dispersas o sin placas no amiloideas de aquellos con placas A β de moderadas a frecuentes usando una interpretación visual binaria de la exploración con PET (Degenhardt et al., 2016).

Los resultados de un estudio muestran que las imágenes de FBP pueden detectar placas A β corticales en el 56% de sujetos sin signos de demencia. Esto es alentador, pero aun así la mayoría de pruebas de FBP en la EA preclínica serían negativas y solo sería probable que se identificaran sujetos con EA preclínica en un estado más avanzado, presentando placas moderadas o abundantes. Sin embargo, es posible que si el objetivo es identificar densidades dispersas de placas A β corticales, se podrían desarrollar otros ligandos más sensibles u otros métodos de análisis de escaneo cualitativos o cuantitativos más sensibles para esto (Beach et al., 2014).

Aunque hay diversas publicaciones sobre este compuesto, aún queda mucho que estudiar y mejorar esta técnica para que llegue a ser una buena herramienta de diagnóstico para la EA.

4.1.4. MARCADORES PLASMÁTICOS

En la búsqueda de la firma biológica de la EA se ha indagado mucho, en los últimos años, en el estudio de la sangre periférica. Uno de los problemas que se encuentran en esta búsqueda es la barrera hematoencefálica, ya que debido a esta los niveles de las posibles proteínas séricas indicadoras de EA en sangre serían de una magnitud muchísimo menor que en el LCR. Además de esto, muchas de estas proteínas sufren procesos catalíticos al atravesar la membrana hematoencefálica. Estos procesos catalíticos producirían secuencias peptídicas de las proteínas las cuales tendrían un tamaño aun menor complicando aún más su estudio. Algunas moléculas que se han estudiado como marcadores en sangre son la transtiretina, el desmosterol, la metaloproteasa 2 o la clusterina (Nabers et al., 2018). Pero hoy por hoy ninguna tiene un valor diagnóstico suficiente como para ser usado en el diagnóstico de EA. No es descartable que en la próxima década se consiga crear un perfil analítico poco invasivo debido al uso de nuevas técnicas de análisis de secuenciación de aminoácidos (Garcia-Ribas et al., 2014).

Se han presentado por primera vez datos cuantitativos sobre los niveles plasmáticos de p-tau181 en controles y pacientes con EA, y sugieren que los niveles de fosfo-tau181 en plasma podrían ser un prometedor biomarcador de la sangre para la patología de la EA. Se deben realizar y desarrollar más estudios a gran escala y bien controlados para validar aún la utilidad del fosfo-tau181 plasmático como un marcador precoz de EA (Tatebe et al., 2017).

4.1.5. MARCADORES EN LA ORINA

La existencia de una prueba basada en la orina para la EA tendría infinidad de ventajas debido a su fácil accesibilidad y estudio. En los últimos años se han abierto un par de vías de estudio en este campo, el estudio de isoprostanos F2 (aunque los resultados son aún dudosos) y la determinación de la proteína de cadena neural (NTP, del inglés neural thread protein). Esta última es una fosfoproteína que se encuentra en ciertas patologías tumorales y en la EA. Aunque su rol en la EA es aún desconocido, podría estar relacionado con el intento de aumentar la conectividad de las neuronas supervivientes al proceso neurodegenerativo. La técnica más prometedora para poner de manifiesto su presencia en orina es mediante una técnica ELISA que recibe el nombre de UNTP (del

inglés urine neural thread protein). Varios estudios arrojan datos bastante prometedores sobre este marcador aunque aún queda mucho que avanzar para su uso en un entorno clínico real (Martin-Carrasco, 2009).

4.1.6. NUEVOS POSIBLES MARCADORES

Se han estudiado una gran cantidad de sustancias presentes en el LCR en busca de alguna relación entre alguna de ellas y la EA, con el objetivo de establecer algún marcador preclínico de dicha demencia.

Además de los biomarcadores clásicos del LCR, existen otros biomarcadores que podrían reflejar procesos patológicos típicos en la EA y mejorar su diagnóstico precoz. Estos nuevos biomarcadores están relacionados, en su mayoría, con el metabolismo de A β , la inflamación o el metabolismo de lípidos. Los nuevos biomarcadores más útiles relacionados con el metabolismo de A β en el LCR son los niveles de isoformas de PPA (como son sPPA α y sPPA β), oligómeros de A β y diferentes isoformas de A β (A β 1-37, A β 1-38, A β 1-39, A β 1-14, A β 1-15, A β 1-16). En el LCR de pacientes con EA también se alteran niveles de neprilisina y cistatina C que son proteínas involucradas en el metabolismo de A β (Babic et al., 2014).

La neuroinflamación es otra característica común de la EA, apoyada por varios estudios epidemiológicos que sugieren una disminución en el riesgo de EA después de la administración a largo plazo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos. De hecho, otros posibles biomarcadores de la degeneración son los niveles alterados de algunos factores inflamatorios en el LCR, como la interleucina (IL)-1, IL-6, factor de necrosis tumoral alfa, factor de crecimiento transformante beta... (Babic et al., 2014).

Relacionado con la neuroinflamación, YKL-40, una glucoproteína de 39 kDa homóloga de la quitinasa, es un marcador para la diferenciación y activación de macrófagos y microglía. Esta proteína está bajo estudio para caracterizarse como biomarcador de lesiones cerebrales y además es cada vez más detectada en personas con EA entre 50 y 70 años de edad (Querol-Vilaseca et al., 2017). Se ha demostrado en algunos estudios que existen niveles elevados de YKL-40 en LCR en las primeras etapas de la EA, aunque existen algunos datos contradictorios. Además, los niveles de YKL-40 en otras demencias no difieren de aquellas con DCL no debidas a EA, mientras que sí se

diferencian de los niveles existentes en EA. Esto sugiere que la neuroinflamación que se produce en EA es diferente de las de otras demencias (Hellwig et al., 2015).

En los últimos años también se ha estudiado el ojo como posible ventana al cerebro y su uso como marcador en ciertas enfermedades neurodegenerativas. Se ha observado que la fisiopatología de la EA contribuye a la formación de cataratas. Goldstein et al. fueron los primeros en revelar la existencia de depósitos de A β en la región supranuclear del ojo en autopsias de pacientes de EA. Esta catarata parece ser diferente a las cataratas relacionadas con la edad y parece ser específica de EA, ya que puede estar relacionada con el depósito de A β . Se están desarrollando gran cantidad de estudios para verificar y mejorar el rendimiento de este marcador que aún es muy poco fiable. Los resultados de estos estudios son muy diferentes entre ellos y arrojan datos controvertidos. Aunque todavía no está claro si la lente ocular podrá llegar a proporcionar un marcador para la detección temprana de EA, si se ha revelado su potencial para llegar a serlo (Tian et al., 2014)

5. CONCLUSIONES

- La EA es una enfermedad de inicio insidioso cuya fisiopatología se inicia años antes de que aparezcan los primeros síntomas.
- El diagnóstico de la EA, en la mayoría de casos, se produce cuando ya aparecen los primeros síntomas cognitivos, momento en que ya la enfermedad no tiene marcha atrás.
- Se requiere un diagnóstico de la EA en fases preclínicas o prodrómicas para aplicar de forma más efectiva los tratamientos actuales o desarrollar otros más específicos de esas etapas.
- Los marcadores más usados en la actualidad para la EA son los marcadores del LCR, marcadores de neuroimagen y marcadores genéticos.
- No hay ningún marcador en la actualidad que por sí mismo sea específico y determinante de la EA, ya que todos aparecen en otras demencias o no son determinantes para su aparición. Hoy en día lo que se utiliza para el diagnóstico es una combinación de varios.
- Pese al gran número de moléculas estudiadas en la actualidad como futuros marcadores aún queda mucho por investigar sobre ellas hasta desarrollar su posible perfil como marcador de EA.

6. BIBLIOGRAFÍA

Avila J. Las proteínas implicadas en la enfermedad de Alzheimer. En: García A, Gandía L. Fronteras en la enfermedad de Alzheimer. Farmaindustria. 2002; 69-78.

Aizenstein HJ, Nebes RD, Saxton JA, Price JC, Mathis CA, Tsopelas ND et al. Frequent Amyloid Deposition Without Significant Cognitive Impairment Among the Elderly. Arch Neurol. 2008; 65(11): 1509-1517.

Babic M, Svob-Strac D, Mück-Seler D, Pivac N, Stanic G, Hof PR et al. Update on the core and developing cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer disease. Croat Med J. 2014; 55: 347-365.

Baldeiras I, Santana I, Leitaó MJ, Gens H, Pascoal R, Tábuas-Pereira M. Addition of the A β 42/40 ratio to the cerebrospinal fluid biomarker profile increases the predictive value for underlying Alzheimer's disease dementia in mild cognitive impairment. Alzheimer's Research & Therapy. 2018 ; 10: 33.

Bales KR, Verina T, Cummins DJ, Du Y, Dodel RC, Saura J et al. Apolipoprotein E is essential for amyloid deposition in the APP V717F transgenic mouse model of Alzheimer's disease. PNAS. 1999; 96(26): 15233-15238.

Beach TG, Schneider JA, Sue LI, Serrano G, Dugger BN, Monsell SE. Theoretical Impact of Florbetapir (18F) Amyloid Imaging on the Diagnosis of Alzheimer's Dementia and the Detection of Preclinical Cortical Amyloid. J Neuropathol Exp Neurol. 2014; 73: 948-953.

Blennow K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. NeuroRx. 2004; 1: 213-225.

Brescané R, Tomé G. Manual de consulta para Cuidadores y Familiares. Know Alzheimer. Profarmaco. 2 . 2014.

Campos-Peña V, Meraz MA. Marcadores moleculares de la enfermedad de Alzheimer. Rev Mex Neuroci. 2006; 7(4): 293-299.

Choi EJ, Son YD, Noh Y, Lee H, Kim YB, Park KH. Glucose Hypometabolism in Hippocampal Subdivisions in Alzheimer's Disease: A Pilot Study Using High Resolution 18F-FDG PET and 7.0-T MRI. J Clin Neurol 2018; 14(2): 158-164.

Cohen AD, Klunk WE. Early detection of Alzheimer's disease using PiB and FDG PET. *Neurobiol Dis.* 2014; 72: 117-122.

Cuéllar S, Blanes A, Dauder B, Díez LM, Espada I, Fernández C et al. Revisión Enfermedad de Alzheimer. *Panorama Actual Med.* 2016; 40(396): 757-786.

Degenhardt EK, Witte MM, Case MG, Yu P, Henley DB, Hochsletler HM et al. Florbetapir F18 PET Amyloid Neuroimaging and Characteristics in Patients With Mild and Moderate Alzheimer Dementia. *Psychosomatics.* 2016; 57:2.

Delabio R, Rasmussen L, Mizumoto I, Viani GA, Chen E, Villares J et al. PSEN1 and PSEN2 gene expression in Alzheimer's disease brain: a new approach. *Journal of Alzheimer's disease.* 2014; 42(3): 757-760.

DeMattos RB, Cirrito JR, Parsadanian M, May CP, O'Dell AM, Taylor JW et al. ApoE and Clusterin cooperatively suppress A β levels and deposition: evidence that ApoE regulates extracellular A β metabolism in vivo. *Neuron.* 2004; 41: 193-202.

Fernández A, Gil Gregorio P, Maestú F. Actividad espontanea electroencefalografica y magnetoencefalográfica como marcador de la enfermedad de alzheimer y el deterioro cognitivo leve. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 2012; 47(1): 27-32.

García-Ribas G, López-Sendón JL, García-Caldentey J. Biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol.* 2014; 58: 308-317.

Gonzalez C, García E, Rodríguez C, Benito J. Últimos avances en el diagnóstico molecular y por imagen de la enfermedad de Alzheimer. *Informe de vigilancia tecnológica.* 2018.

Gordon BA, Friedrichsen K, Brier M, Blazey T, Su Y, Christensen J. The relationship between cerebrospinal fluid markers of Alzheimer pathology and positron emission tomography tau imaging. *BRAIN.* 2016; 139: 2249-2260.

Hampel H, Blennow K, Shaw LM, Hoessler YC, Zetterberg H, Trojanowski JQ. Total and phosphorylated tau protein as biological markers of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 2010; 45(1): 30-51.

Hampel H, Teipel SJ, Fuchsberger T, Andreasen N, Wiltfang J, Otto M. Value of CSF β -amyloid and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Molecular Psychiatry.* 2004; 9: 705-710.

Hellwing K, Kvartsberg H, Portelius E, Andreasson U, Oberstein TJ, Lewczuk P et al. neurogranin and YKL-40: independent markers of synaptic degeneration and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*. 2015.

Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Harrison. *Principios de Medicina Interna*. 19º ed. Mc Graw Hill Education; 2016.

Khan TK. An Algorithm for Preclinical Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Neurosci*. 2018; 12: 275

Klein WL, Stine WB, Teplow DB. Small assemblies of unmodified amyloid β -protein are the proximate neurotoxin in Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*. 2004; 25: 569-580.

Lanoiselée H-M, Nicolas G, Wallon D, Rovelet-Lecrux A, Lacour M, Rousseau S, et al. *APP*, *PSEN1*, and *PSEN2* mutations in early-onset Alzheimer disease: A genetic screening study of familial and sporadic cases. *PLoS Med*. 2017; 14(3).

Lehmann S, Delaby C, Boursier G, Catteau C, Ginestet N, Tiers L et al. Relevance of A β 42/40 ratio for detection of Alzheimer disease pathology in clinical routine: the PLMr scale. *Aging Neurosci*. 2018; 10: 138- 146.

Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy. *Nat Rev Neurol*. 2013; 9(2): 106-118.

Liu Y, Qing H, Deng Y. Biomarkers in Alzheimer's disease analysis by mass spectrometry-based proteomics. *Int J Mol Sci*. 2014; 15: 7865-7882.

Mantzavinos V, Alexiou A. Biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. *Current Alzheimer Research*. 2017; 14: 1149-1154.

Martín-Carrasco M. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer: definición, significación diagnóstica y utilidad clínica. *Psicogeriatría*. 2009; 1(2): 101-114.

Mesa MP. Aproximación diagnóstica a la enfermedad de Alzheimer temprana. ¿De qué hablamos? Aspectos conceptuales. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2011; 46: 33-38.

Nabers A, Perna L, Lange J, Mons U, Schartner J, Guldenvaupt J et al. Amyloid blood biomarker detects Alzheimer's disease. *EMBO*. 2018.

Petersen RC, Caracciolo B, Brayne C, Gauthier S, Jelic V, Fratiglioni L. Mild cognitive impairment: a concept in evolution. *J Intern Med*. 2014; 275(3): 214-228.

Price JL, DPhil, Morris JC. Tangles and plaques in nondemented aging and preclinical Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1999; 45: 358-368.

Querol- Vilaseca M, Colom-cadena M, Pegueroles J, Martin-Paniello C, Clarimon J, Belbin O et al. YKL-40 (Chitinase 3-like I) is expressed in an subset of astrocytes in Alzheimer's disease and other tauopathies. *Journal of neuroinflammation*. 2017; 14: 118-128.

Simón AM, Frechilla D, Del Río J. Perspectivas sobre la hipótesis de la cascada del amiloide en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol*. 2010; 50: 667-675.

Sperling R, Mormino E, Johnson K. The Evolution of Preclinical Alzheimer's Disease: Implications for Prevention Trials. *Neuron*. 2014; 84.

Suárez JP, Maldonado A, Domínguez ML, Serna JA, Kostvinseva O, Ordovas A et al. La tomografía por emisión de positrones (PET) en la práctica clínica oncológica. *Oncología*. 2004; 27(8): 479-489.

Tatebe H, Kasai T, Ohmichi T, Kishi Y, Kakeya T, Waragai M et al. Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Molecular Neurodegeneration*. 2017; 12:63

Thai C, Lim YY, Villemagne VL, Laws SM, Ames D, Ellis KA et al. Amyloid-related memory decline in preclinical Alzheimer's disease is dependent on APOE ϵ 4 and is detectable over 18-months. *PLoS ONE*. 2015; 10(10).

Tian T, Zhang B, Jia Y, Li Z. Promise and Challenge: The Lens Model as a Biomarker for Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Disease markers*. 2014.

Toledo JB, Zetterberg H, Harten AC, Glodzik L, Martinez-Lage P, Bocchio-Chiavetto L. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarker in cognitively normal subjects. *BRAIN*. 2015; 138: 2701-2715.

Valdivieso F, Bullido MJ. Disección genética de la enfermedad de Alzheimer. En: García AG, Gandía L. Fronteras en la enfermedad de Alzheimer. Madrid: Farmaindustria; 2002. 79-100.

Valls-Pedret C, Molinuevo JL, Rami L. Diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer: fase prodrómica y preclínica. Rev Neurol. 2010; 51: 471-480.

Villegas S. Enfermedad de Alzheimer: nuevas estrategias terapéuticas. Med Clin Barc. 2014; 145(2): 76-83.